# 黃耆對腦缺血大鼠被動迴避學習反應障礙之影響

彭文煌 謝明村 林穎志

中國醫藥學院 中國藥學研究所

## 摘 要

本研究探討雙側頸動脈結紮大鼠口服投與黃耆水抽取物及腹腔注射黃耆活性成分黃耆多醣，對被動迴避學習反應之影響，並以電痛刺激實驗及大鼠自發運動量儀測定缺血大鼠之痛閾值及運動量改變，結果顯示雙側頸動脈結紮大鼠於結紮第二天及第十天會產生被動迴避學習反應障礙與腦血流減慢，當給予黃耆水抽取物及黃耆多醣每天一次，連續給與二天或十天對雙側頸動脈結紮大鼠產生之被動迴避學習反應障礙有顯著改善作用，對雙側頸動脈缺血大鼠之痛閾值並無影響。對雙側頸動脈結紮大鼠之運動量降低有明顯增加作用。黃耆多醣連續腹腔給與二天或十天對雙側頸動脈結紮大鼠之腦血流減慢也具顯著改善作用。

綜合以上結果顯示，當給予黃耆水抽取物與黃耆多醣每天一次，連續給二天或十天對雙側頸動脈缺血大鼠之被動迴避學習反應障礙有顯著改善作用。此改善作用可能與黃耆多醣增加缺血大鼠腦血流量，改善大鼠缺血有關。

**關鍵詞：** 黃耆、黃耆多醣、腦缺血大鼠、被動迴避、腦血流量

## 前 言

老年痴呆症及腦血管性痴呆症屬於多發梗塞性痴呆，目前大多採對症療法，主要以修復受損傷之腦組織及提高腦代謝活性爲目的，臨床上多使用腦循環改善劑及腦代謝復活劑。然這些治療劑使用高劑量或長期服用時，會有失眠、不安及譫語惡化等不良副作用產生[1]。

Pulsinelli 及 Brierley 以阻塞一般頸動脈及永久遮斷頸錐動脈法可在未麻醉大鼠產生腦部缺血[2]，雖然此方法操作耗時且需要精細的處理，然現今一般仍被用爲一種學習與記憶損害的動物模式[3-5]。又 Nabeshima 研究證實阻塞雙側頸動脈可產生腦部缺血，於阻塞後第二天，會產生被動迴避學習反應障礙，主要是因爲海馬回CA1區神經元損害，甚至死亡或運動量增加所致；於阻塞後第十天，亦會產生被動迴避學習反應障礙，主要與海馬回CA1區神經元損害有關[6]。

先前之研究顯示，當歸補血湯具有改善腦缺血性大鼠被動迴避學習反應障礙的作用，其主要由黃耆及當歸所組成[7]，黃耆最早記載於本經，爲豆科植物黃耆 *Astragalus membranaceus* Bge 的乾燥根，具有補氣作用，現代藥理研究證實黃耆具有抗血小板聚集、抗溶血作用[8]、提高小鼠免疫功能、增強小鼠腹腔巨噬細胞的吞噬功能[9]。

因此本研究擬以被動迴避儀(passive avoidance task)來探討黃耆水抽取物與黃耆多醣對缺血性大鼠學習記憶障礙之作用，腦血流測定儀測定黃耆活性成分黃耆多醣對腦缺血大鼠腦血流之影響，並以自發運動量測定儀測定缺血性大鼠的運動量，以探討運動量變化是否影響被動迴避學習反應，以找尋對缺血引起之學習記憶障礙有改善作用的藥物，提供瘀血性痴呆症患者其他可改善學習記憶障礙的新藥物。

## 材料與方法

一、實驗藥材之製備：

本實驗所用之黃耆，經生藥學鑑定，確定其基原如下：

黃 耆：爲豆科植物黃耆(Astragalus membranaceus Bge.)的乾燥根。本研究將黃耆以蒸餾水浸潤後，在50℃下迴流抽取四～五次，每次約四小時，合併抽取液，經減壓濃縮乾燥

聯絡作者：彭文煌
通訊處：台中市學士路九十一號
中國藥學研究所
電 話：(04)2053366-1016
收文日期：1/13/2000
收受日期：2/1/2000

後，即得黃耆水萃取物(以下簡稱Astw)。

黃耆多醣(Astragalus polysaccharide，以下簡稱APS)：本研究購自西安醫科大學化學研究室唐玉海教授。

二、實驗方法：

*1.* 缺血性大鼠(ischemic rats)之處理：

實驗大鼠以pentobarbital麻醉，將麻醉大鼠仰臥，由腹頸部中線切開，並游離出頸動脈，將兩側頸動脈以縫合線結紮，實驗期間以恆溫板及40W檯燈光照控制實驗動物肛溫在攝氏36-37度，手術後動物置於飼養籠，並給予光照至其翻正反射(righting reflex)產生爲止。

*2.* 對缺血性大鼠被動迴避反應障礙之影響：

本實驗是使用「條件反應測定裝置」(Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)，此裝置分成兩部份：實驗箱(Shuttle Box)係爲一經中間閘門分隔爲相同大小明、暗二室(48 × 20 × 30cm)的箱子及其控制器(MCU-101 Controller，Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)；二室地板由不銹鋼條組成，上方置一15W之電燈泡。

訓練期：將缺血性大鼠置入實驗箱之暗室地板上並打開閘門，當動物進入明室後，關上閘門，同時於明室底板通以電流(1mA，2sec)，5秒後才自室內取出，歸回飼養籠。

測定期：於訓練後24小時，再將實驗大鼠置於明室，記錄大鼠由明室至暗室之滯留時間。當動物於明室之滯留時間大於5分鐘(300秒)時，則稱大鼠之學習記憶能力正常[6]。

實驗分二天給藥組及十天給藥組。二天給藥組，動物於頸動脈阻塞處理後立刻口服給予不同劑量之Astw及腹腔注射APS，隔天於訓練前60分鐘再口服給藥一次，口服給藥60分鐘後，依前法，將實驗動物分別放入實驗箱進行訓練，訓練後，將實驗動物歸回飼養籠；待24小時後，再將動物置於明室，進行測定，記錄動物由明室至暗室之滯留時間；十天給藥組，動物於頸動脈阻塞處理後口服給予不同劑量之Astw及腹腔注射APS，每天給藥一次，連續給藥十天，於最後一次給藥60 分鐘後，依前法，將實驗動物分別放入實驗箱進行訓練，訓練後，將實驗動物歸回飼養籠；待24小時後，再將動物置於明室，進行測定，記錄動物由明室至暗室之滯留時間。

*3.* 對缺血性大鼠自發運動量之影響：

運動量之測定是使用「動物運動量測定裝置」(Varimex-one Activity Meter, Columbus, USA)，記錄缺血性大鼠經口服給予不同劑量之Astw及腹腔注射APS後之運動量。實驗分二天給藥組及十天給藥組；二天給藥組，於動物頸動脈阻塞處理後口服給予不同劑量之Astw及及腹腔注射APS，隔天再口服給藥一次，於口服給藥55分鐘後放入此裝置內適應5分鐘，再開始記錄，觀察並連續記錄五分鐘。十天給藥組，動物於頸動脈阻塞處理後口服給予不同劑量之Astw及及腹腔注射APS，每天給藥一次，連續給藥十天，於最後一次給藥後55分鐘，放入此裝置內適應5分鐘，再觀察並連續記錄五分鐘[10]。對照組均給予vehicle。

*4.* 對缺血性大鼠在不同電流強度下之痛刺激影響：

將手術後大鼠分成控制組及給藥組，給藥組經給藥60分鐘後，將實驗缺血性大鼠放置於穿梭實驗箱(shuttle box)之地板上，同時地板通以不同強度的電流(0.6, 0.7,0.8, 0.9, 1.0mA)，在不同電流強度下測定其有無嘶叫聲，經5分鐘後，再測之，連測三次，凡連續二次電刺激引起嘶叫者，表示該動物之痛閾值，最後分別求各組之最低痛閾值[10]，控制組給予生理食鹽水。

*5.* 對缺血性大鼠腦部血液循環之影響：

缺血性大鼠腹腔注射給予APS兩天及十天，以動物血液循環測定儀(BLF21A, Transonic Systems Inc)[11]，依度普樂原理測定其腦血管之血流速度。首先將缺血大鼠以pentobarbital麻醉，於λ往前4.2mm～4.5mm，腦殼中線旁開2.5～3mm，鑽一個直徑1～2mm的洞，硬腦膜保持完整，將雷射杜普樂血流探針(Transonic Flowprobe HL-1235)置於距硬腦膜表面上0.5mm處測腦血流。[12]

*6.* 統計學分析：

本實驗所得之數據，自發運動量實驗，以one-way ANOVA分析其變異數，再以Scheffe,s test檢定，統計並分析其間差異之顯著性，凡P值小於0.05以下時，則認爲有統計意義。鎮痛實驗及單向被動迴避學習反應實驗，則以無母數分析法統計，先以Kruskal-Wallis單因子變異數分析各組間之變異數差異，再以Mann-

Whitney U-test 檢定其間差異之顯著性，凡 P 值小於0.05以下時，則認爲有統計意義。

## 結 果

一、對缺血性大鼠被動迴避反應障礙之影響：

黃耆水抽取物每天口服給予1.0g/kg一次，與腹腔注射黃耆多醣0.1g/kg、0.5g/kg每天給藥一次連續給藥二天，對缺血性大鼠 step-through latencies 有顯著延長的作用（如圖一所示）。0.5、1.0 g/kg 黃耆水抽取物及每天口服給藥一次與腹腔注射黃耆多醣0.1g/kg、0.5g/kg每天給藥一次連續給十天，對缺血性大鼠 step-through latencies 有顯著延長的作用，（如圖二所示）。

二、對缺血性大鼠自發運動量之影響：

1.0g/kg 黃耆水抽取物及0.5g/kg腹腔注射黃耆多醣投藥二天，及0.5、1.0/kg黃耆水抽取物及0.5g/kg腹腔注射黃耆多醣投藥十日皆可改善缺血性大鼠之自發運動量減少作用（如表一）。

三、對缺血性大鼠在不同電流強度下之痛刺激影響：

口服給予黃耆水抽取物及腹腔注射黃耆多醣，每天給藥一次，連續給藥十天，對缺血性大鼠之最低痛閾值並無影響（如表二）。

四、對缺血性大鼠腦部血液循環之影響：

黃耆多醣0.5g/kg每天腹腔注射給藥一次，連續給二天與0.1g/kg、0.5g/kg每天腹腔注射給藥一次，連續給藥十天，對缺血性大鼠之腦血流量有顯著改善的作用，（如圖三所示）。

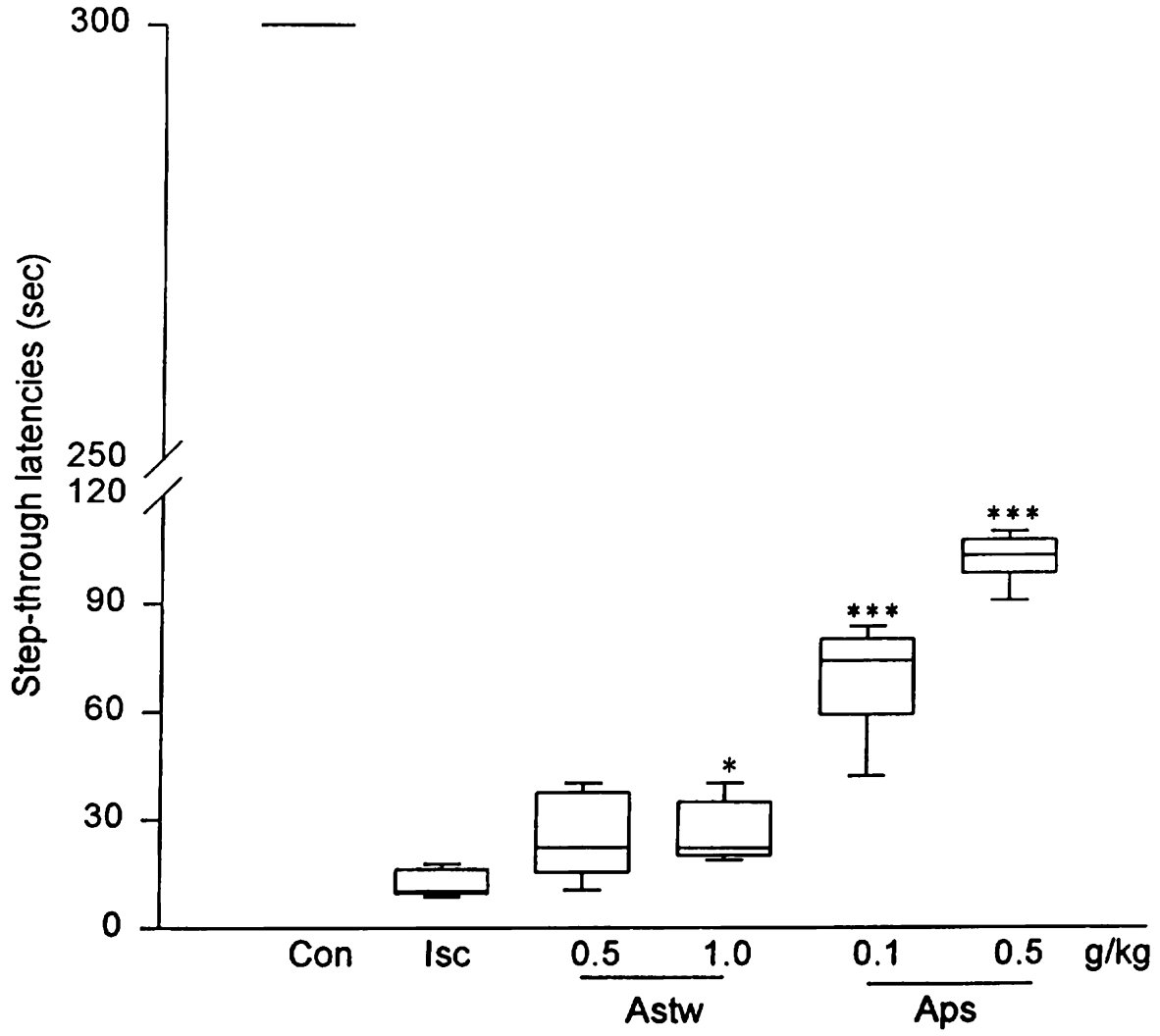


Fig 1. Effects of water extract of Astragalus radix (Astw) and astragalus polysaccharide (APS) for two days administration on the impairment of step-through latencies induced by cerebral ischemia rats after two days occulusion. Each column, center line in the column and the bars represent the 95% confidence interval, median and range of 12-18 rats, respectively. Isc: ischemia rats. *P<0.05, ***P<0.001 as compared with the Isc group.

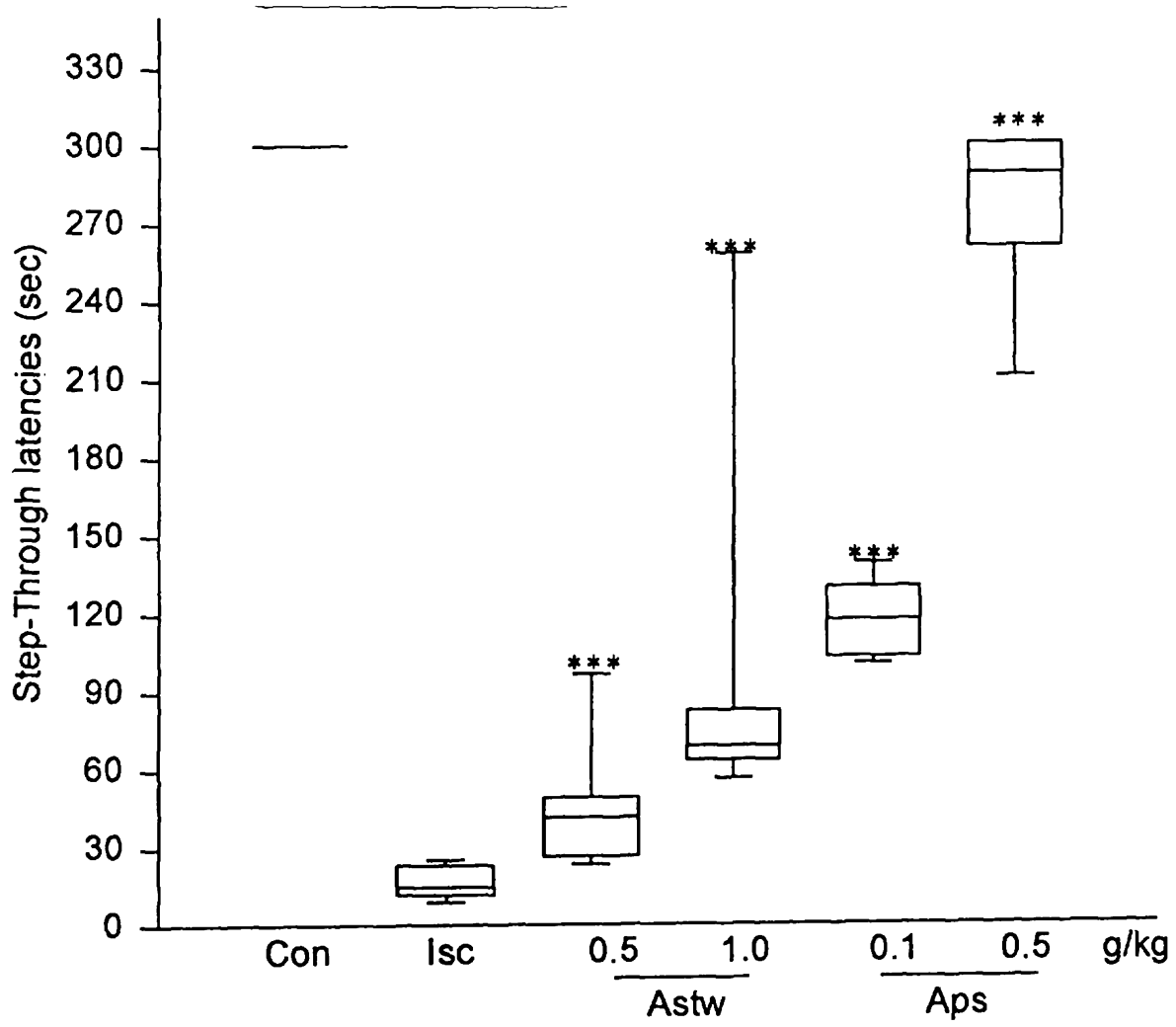


Fig 2.Effects of water extract of Astragalus radix (Astw) and Astragalus polysaccharide (APS) for ten days administration on the impairment of step-through latencies induced by cerebral ischemia rats after ten days occulusion. Each column, center line in the column and the bars represent the 95% confidence interval, median and range of 12-18 rats, respectively. Isc: ischemia rats. ***P<0.001 as compared with the Isc group.

Table1.Effects of water extract of Astragalus radix (Astw) and Astragalus polysaccharide (APS) for two and ten days administration on the locomotor activity produed by cerebral ischemia rats.

| Activity Counts / Groups | Ischemia days | |
|---|---|---|
| | 2 | 10 |
| Control | 350 ± 20 | 326 ± 11 |
| Isc | 114 ± 6 | 125 ± 12 |
| Isc+Astw 0.5 g/kg | 135 ± 14 | 193 ± 23* |
| Isc+Astw 1.0 g/kg | 316 ± 54** | 196 ± 29 |
| Isc+APS 0.1 g/kg | 159 ± 23 | 136 ± 16 |
| Isc+APS 0.5 g/kg | 270 ± 12** | 296 ± 23** |

Isc: Ischemia rats
*P<0.05, **P<0.01 as compared with the Isc group.

Table2.Effects of water extract of Astragalus radix (Astw) and Astragalus polysaccharide (APS) after ten day administration on the electric foot-shock in rats.

| Drug | Dose(g/kg,p.o.) | Threshold (mA) | |
|---|---|---|---|
| | | Flinch | Jump/Vocalization |
| Control | | 0.76 ± 0.02 | 0.84 ± 0.02 |
| Isc | | 0.75 ± 0.01 | 0.83 ± 0.02 |
| Astw | 0.5 | 0.78 ± 0.02 | 0.83 ± 0.03 |
| Astw | 1.0 | 0.76 ± 0.02 | 0.84 ± 0.01 |
| APS | 0.1 | 0.77 ± 0.01 | 0.80 ± 0.01 |
| APS | 0.5 | 0.8 ± 0.03 | 0.87 ± 0.03 |

Isc: Ischemia rats

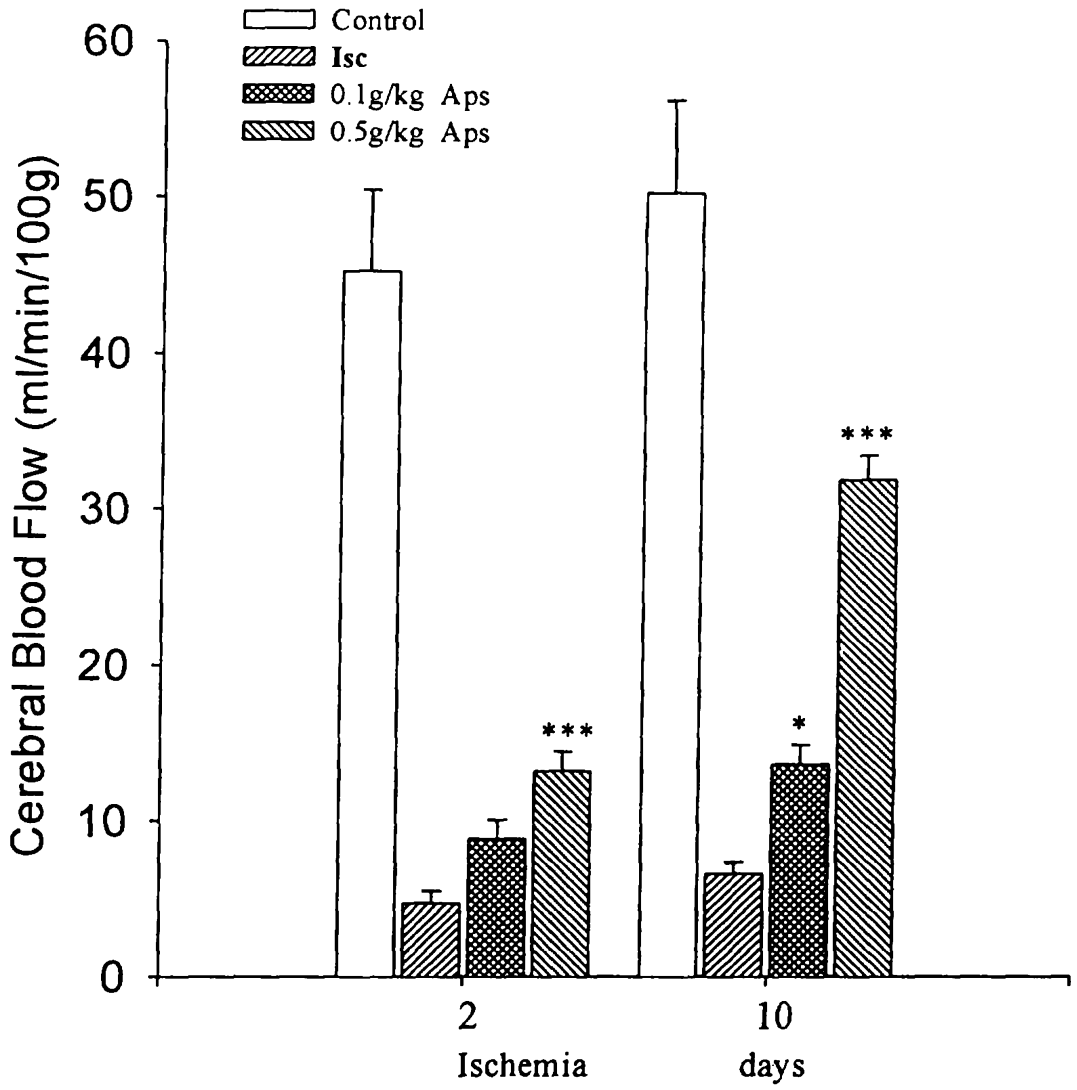


Fig 3.Effects of Astragalus polysaccharide (APS) for two and ten days administration on the impairment of cerebral ischemia rats. Isc: ischemia rats. *P<0.05, ***P<0.001 as compared with the Isc group.

## 討 論

黃耆系豆科黃耆屬植物，爲中醫傳統常用的補氣藥，具有助氣壯筋骨、長肉補血破癥癖等功效，現代藥理研究報告顯示，黃耆對心肌缺血再灌注損傷有保護作用，可提高心肌的抗氧化能力、清除自由基、減輕細胞膜脂質過氧化及維持細胞膜的完整[13]，且先前的研究報告顯示當歸補血湯其由黃耆及當歸組成，對腦缺血大鼠產生的被動迴避反應障礙具有改善作用[7]，因此本研究擬進一步探討黃耆對腦缺血大鼠產生的被動迴避反應障礙之影響，結果如圖一所示，大鼠雙側頸動脈結紮，於第二天及第十天會導致被動迴避學習反應障礙，此結果與Nabeshima研究結果相似[6]。黃耆水抽取物每天給藥一次，連續給予二天或十天，對腦缺血大鼠產生的被動迴避反應障礙有改善作用，又黃耆多醣0.1、0.5/kg腹腔給藥連續給予二天或十天，對腦缺血大鼠產生的被動迴避反應障礙現象亦具改善作用，黃耆水抽取物0.5、1.0 g/kg每天口服給藥一次與黃耆多醣每天腹腔注射0.1、0.5g/kg連續給藥十天，對缺血性大鼠之最低痛閾值並無影響，顯示黃耆水抽取物與黃耆多醣對大鼠雙側頸動脈結紮於第二天及第十天記憶獲得障礙之改善作用與痛閾值無關，口服黃耆水抽取物1.0g/kg與腹腔注射黃耆多醣0.5g/kg投藥二天，及黃耆水抽取物0.5、1.0/kg及0.5g/kg腹腔注射黃耆多醣投藥十日皆可改善缺血性大鼠之自發運動量減少。由上結果顯示黃耆水抽取物及黃耆多醣皆可改善大鼠雙側頸動脈結紮於第二天及第十天之被動迴避學習反應障礙。

又雙側頸動脈結紮之腦缺血大鼠於結紮後第二天及第十天之腦血流有顯著減慢，黃耆多醣於0.1及0.5g/kg劑量下每天腹腔給藥一次，連續給二天及十天可顯著增加腦缺血大鼠於結

紮後第二天及第十天之腦血流減慢。現代藥理研究報告顯示，黃耆多醣對急性心肌缺血有明顯的保護作用及微循環改善作用[13]，黃耆口服投與能明顯減少血栓形成和降低血小板粘附率[14]，又黃耆口服或黃耆多醣腹腔注射對兩側頸動脈結紮小鼠所致的腦缺氧均有顯著對抗作用，黃耆多醣腹腔注射對減壓與常壓之正常老鼠皆有明顯耐缺氧能力，可明顯延長小鼠的存活時間[15,16]，且黃耆多醣對急性梗塞性犬具保護作用，有改善心肌收縮性，縮小心肌梗塞面積，此可能與抑制Na+ 、K+-ATP酶活性有關[17]。黃耆與黃耆多醣可改善腦缺血大鼠之被動迴避學習反應障礙，黃耆多醣更可增加其腦血流，應與黃耆可擴張腦中動脈之血管，黃耆多醣改善心肌收縮性，因而增加腦血流量有關。

綜合上述結果，得知黃耆水抽取或黃耆多醣給藥2天及10天對雙側頸動脈結紮大鼠之被動迴避反應障礙均有改善作用，黃耆水抽取物及黃耆多醣對缺血性癡呆大鼠具有治療作用，黃耆多醣之改善雙側頸動脈結紮大鼠之被動迴避反應障礙可能與其直接擴張血管，增加腦血流有關。

## 謝 辭

本研究承蒙行政院衛生署中醫藥委員會經費補助(CCMP86-RD-030)，得以順利完成，僅此誌謝。

## 參考文獻


1. Preston J, Johnson J. Clinical Psychopharmacology made Radiculosly Simple. MedMaster, Inc., Miami 1992; 128-141.
2. Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the anesthetized rats. Stroke 1979;10:267-272.
3. Davis HP, Baranowski JR, Pulsinelli WA, Volpe BT. Retension of reference memory following ischemic hippocampal damage. Physiol Behav 1987;39: 783-786.
4. Davis HP, Tribuna J, Pulsinelli WA, Volpe BT. Reference and working memory of rats following hippocampal damage induced by transient forebrain ischemia. Physiol Behav 1986;37: 387-392.
5. Ohno M, Yamamoto T, Ueki S. Effect of the k-receptor agonist, U-50,488H, on cerebral ischemia-induced impairment of working memory assessed in rats by a three-panel runway task. Eur J Pharmacol 1991; 193: 375-361,.
6. Amano M, Hasegawa M, Hasegawa T, Nabeshima T. Characteristics of transient cerebral ischemia-induced deficit on various learning and memory tasks in male Mongolian gerbils. Jpn J Pharmacol 1993; 63: 469-477.
7. 林穎志、謝明村、吳龍源、彭文煌：當歸補血湯對缺血性大鼠被動迴避學習反應障礙之影響。中國醫藥學院雜誌 1998；7(3)：157-163。
8. 吳琦、王娟娟、越琳：黃耆及其單味藥對60Co照射小鼠免疫功能的影響。北京中醫學院學報 1993;16(4)：53-55。
9. 馬世平、楊漢祥、瞿融、杭秉蒨、李珮珍：黃耆及其組成藥物對紅細胞免疫功能的影響。中成藥 1992; 12(8): 23-24。
10. 李儀奎：中藥藥理實驗方法學。上海科技出版社，上海，1991: 355-356。
11. Morikawa E. Zhang SM. Seko Y. Toyoda T. Kirino T. Treatment of focal cerebral ischemia with synthetic oligopeptide corresponding to lectin domain of selection. Stroke 1996; 27(5):951-955.
12. Iadecola C. Zhang F. Casey R. Clark HB. Ross ME. Inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular cells after transient focal cerebral ischemia. Stroke 1996; 27(8): 1374-1375.
13. 馮國清、秦曉晨、劉潔、付潤芳、翁世艾：黃耆對大鼠心肌缺血再灌注損傷的防護作用。中藥藥理與臨床1997；13(3)：27-29。
14. 李先榮、康永、程霞、牛豔豔：注射用黃耆多糖藥理作用的研究—4. 對心血管系統藥理作用。中成藥 1989; 11(11): 33-34。
15. 康永、李先榮、程霞、牛豔豔：黃耆口服液藥理作用的研究。中草藥 1989;20(11): 21-23。
16. 李先榮、康永、程霞、牛豔豔、劉德寬：注射用黃耆多糖藥理作用的研究—1. 對應激反應的實驗研究。中成藥 1989; 11(3): 27-29。
17. 陳羽、呂文偉、魏永弟：黃耆皂甘與黃耆多糖對急梗犬心的保護作用及其機制分析。中藥藥理與臨床 1994；10(3):12-16。

# Effects Of Astragalus Radix On The Impairment Of Passive Avoidance Leraning In Rats Exposed To Cerebral Ischemia

Wen-Huang Peng, Ming-Tsuen Hsieh, Ying-Chih Lin

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College

## Abstracts

In this study, we used the passive avoidance task to investigate the effects of the water extract of Astragalus Radix (Astw) and Astragalus polysaccharide (APS) on the impairment of passive avoidance learning in rats exposed to cerebral ischemia.

The rats after the occulusion of carotid vessels for two days or ten days produced the impairment of passive avoidance learning. The Astw at 0.5 、 1.0 g /kg and APS at 0.1 、 0.5g/kg administered for two or ten days improved the impairment of passive avoidance learning produced by cerebral ischemia rats. This improssive effects of Astw and APS were not affected by the changes of the pain threshold. The Astw and APS also improved the hypomotilities produced by cerebral ischemia rats. Furthermore, APS increased the brain blood flow in the cerebral ischemia rats .

In conclusion, the Astw and APS improved the impairment of passive avoidance learning produced by cerebral ischemia rats. The impressive effect of APS may be related to the inrease in the cerebral blood flow.

**Key words :**Astragalus radix, Astragalus polysaccharides , Cerebral ischemia rats, Passive avoidance

Received:1/13/2000
Accepted:2/1/2000
Address reprint requests to:Wen-Huang Peng
Address: No 91, Hsueh Shih Road,
Taichung 404, Taiwan, R.O.C.
Tel: (04)2053366 ext.1016